Über die Lysotypie von 423 Klebsiella- und 78 Enterobacter-Stämmen nach A. Przondo-Hessek und H. Milch

Peter Geretzki

1971

Dissertationsdruck- und Verlagsanstalt
Werner Blasaditsch · 89 Augsburg · Theodor-Heuß-Platz 3 · Tel. (0821) 25563

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0004

Aus dem Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. B. Schmidt

Über die Lysotypie von 423 Klebsiella- und 78 Enterobacter-Stämmen nach A. Przondo-Hessek und H. Milch

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Geretzki

aus Berlin

1. Referent: Prof. Dr. med. V. Lenk

2. Referent: Prof. Dr. med. Hansjürgen Raettig

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 8.7.1971

Inhaltsverzeichnis

A Einleitung

I Kurzer Abriß der Geschichte der Lysotypie

II Verfahren der Lysotypie
1. Die direkte Lysotypie
2. Die indirekte Lysotypie
3. Die Kombination der direkten mit der indirekten Lysotypie
4. Die direkte Lysotypie mit künstlich freigesetzten temperierten Phagen

III Voraussetzungen für die Lysotypie

IV Die Bedeutung der Lysotypie für die Epidemiologie

V Die Klebsiella-Lysotypie
1. Geschichte der Klebsiella-Lysotypie
2. Verfahren zur Gewinnung von Klebsiella-Phagen

B Eigene Untersuchungen

I Material und Methoden
1. Die Propagation der Testphagen
2. Vorbereitung der homologen Teststämme, sowie der zu typisierenden Stämme für die Lysotypie von Klebsiella-Stämmen
3. Herstellung der Routine Test Dilution für die Lysotypie
4. Die Lysotypie mit den Phagen 2, 4, 6, 42, 106, 165, 171, 181, 328, 832, 937, 765/1
5. Herkunft und Gewinnung der zu typisierenden Klebsiella-Stämme
a) Herkunft der Klebsiella-Stämme
b) Verfahren zur Isolierung von Klebsiella-Stämmen

II Ergebnisse der Lysotypie von 423 Klebsiella-Stämmen
1. Ergebnis der Typisierung von 423 Klebsiella- und 78 Enterobacter-Stämmen mit dem Phagensatz

I bis XV, 4, 7, 35, E_{14} (Kombination der Phagen von A. Przondo-Hessek und H. Milch)
a) Die Spezifität der Klebsiella-Phagen
b) Verteilung der Klebsiella-Stämme auf die Lysotypen
c) Unterscheidung der Klebsiella-Lysotypen nach der Herkunft der Stämme
d) Beispiele für nicht typisierbare Stämme
e) Das Indolverhalten der untersuchten Klebsiella-Stämme
f) Besonderheiten bei der Lysotypie atypisch wachsender Klebsiella-Stämme
g) Das Adonitverhalten der untersuchten Stämme
2. Lysisreaktionen der Enterobacter-Stämme mit dem Testphagen E_{14}

III Diskussion der Ergebnisse der Klebsiella-Lysotypie

1. Beurteilung der in Berlin und Budapest hergestellten Phagensuspensionen für die Klebsiella-Lysotypie
2. Erstellung eines neuen Lysespektrums in Anlehnung an Budapester Versuchsbedingungen
   a) Methode der Anreicherung
   b) Beurteilung des Lysespektrums
3. Diskussion der Ergebnisse der Lysotypie mit den Phagen I bis XV, 4, 7, 35
   a) Die typisierbaren Stämme
   b) Die nicht typisierbaren Stämme
4. Verbesserung der Lysotypieergebnisse durch Erweiterung des Phagensatzes
5. Die Anwendbarkeit der Klebsiella-Lysotypie

C Zusammenfassung

A Einleitung

I Kurzer Abriß der Geschichte der Lysotypie

Als erster beobachtete wohl Twort (51) am Beispiel der Staphylokokken die Wirkung von Bakteriophagen.

Bail(2) erwog die Unterscheidung von Bakterienstämmen mit Bakteriophagen.

Sonnenschein(50) benutzte Typhus- und Paratyphus B-Phagen zur beschleunigten Diagnosestellung, ebenso wie Schmidt(46,47), der die Brauchbarkeit der Sonnenscheinschen Diagnostikphagen in der Typhus- und Paratyphusdiagnose nachwies und neue Phagen durch Umzüchtung gewann.

Auch Marcuse(30,31) führte Anpassungsversuche mit den Sonnenscheinschen Diagnostikphagen durch.

Craigie und Yen(11) legten schließlich den Grundstein für die Lysotypie von S.typhi und beschrieben 4 Vi-Phagen. In der 1947 von Craigie und Felix veröffentlichten Arbeit(10) wurden die Grundzüge der Lysotypie von S.typhi durch die Adaptation des Vi-Phagen II in der heutigen Form entwickelt. Im selben Jahr wurde in Kopenhagen das International Committee for Enteric Phage Typing gegründet. Diesem Komitee unterliegt die zentrale Herstellung der für die Diagnostik von S.typhi und S.paratyphi B benutzten Phagen. Damit entfallen lokale Phagenanreicherungen. Diese Phagen werden an die nationalen bzw. regionalen Zentren der verschiedenen Länder abgegeben. Auf diese Weise ist eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse möglich.

Hammarström(18) gelang es mit 7 Phagen 108 Shigella sonnei-Stämme in 14 Typen zu unterteilen.

II Verfahren der Lysotypie

Als Verfahren kommen zur Anwendung:

1. Die direkte Lysotypie

Bei der direkten Lysotypie werden mit einer Reihe ausgesuchter Bakteriophagen hoher Spezifität die Bakterienstämme auf Grund ihres Lysisbildes in Lysotypen eingeteilt.

a) Die Unterscheidung einer Art in Lysotypen wird durch empirisch gefundene freie, exogene Phagen vorgenommen, z.B. die Lysotypie von S.typhi-murium nach Lilleengen(29)

b) Die Unterscheidung wird mit spezifischen und danach adaptierten Phagen vorgenommen, wie z.B. bei der Lysotypie von S.typhi mit dem mehrfach adaptierten Vi-Phagen II, so daß heute über 80 verschiedene Phagenpräparationen existieren, die alle auf den Vi-Phagen II zurückzuführen sind.

2. Die indirekte Lysotypie

Die Unterscheidung erfolgt durch den Nachweis endogener d.h. latenter Phagen in den Bakterienstämmen. Diese latenten, temperierten Phagen werden mittels geeigneter Indikatorstämme identifiziert.

3. Die Kombination der direkten mit der indirekten Lysotypie

Die Lysotypie erfolgt mit Hilfe der Kombination der bei der direkten und indirekten Lysotypie verwendeten Phagen, wie sie z.B. von Scholtens bei der Lysotypie von S.paratyphi B vorgenommen wird.

4. Die direkte Lysotypie mit künstlich freigesetzten temperierten Phagen

Hier werden durch äußere Eingriffe (z.B.UV-Strahlen) in den Bakterien sitzende temperierte, latente Phagen freigesetzt und dann wie die exogenen Phagen zur Typisierung verwendet.

III Voraussetzungen für die Lysotypie

Folgende Voraussetzungen sollten vor Anwendung der Lysotypie erfüllt sein(1):

1. Die Stabilität der Bakterientypen und des Wirtsspektrums der Bakteriophagen soll gewährleistet sein.
2. Es soll eine angemessene und nicht zu geringe Anzahl von Lysotypen bzw. Typisierphagen vorhanden sein.
3. Die Methode soll mit einfacher Technik zu schnell überprüfbaren und reproduzierbaren Ergebnissen führen.
4. Die epidemiologische Brauchbarkeit des Typisierschemas muß erwiesen sein.

Basierend auf diesen Forderungen wurden Verfahren für die Lysotypie (im englischen Sprachgebrauch "phagetyping") von S.typhi, S.paratyphi B, S.typhi-murium, anderen Salmonellen, Shigella sonnei und Staphylococcus aureus entwickelt und erlangten besondere Bedeutung bei der Aufdeckung von Infektionsketten.

IV Die Bedeutung der Lysotypie für die Epidemiologie

Eine Unterteilung von Bakterienspecies kann z.B. durch Bakteriophagen, durch Bacteriocinbildung, durch die Serologie, durch biochemische Reaktionen (Biotypen) oder auf Grund von Wachstumseigenschaften erfolgen.

Die Lysotypie hat sich in der Aufdeckung von Infektionsketten bewährt, da im Gegensatz zu anderen Verfahren durch eine ausreichende Zahl von Subtypen allgemein eine breitere Streuung der einzelnen Typen gegeben ist. Dieses gilt besonders für die Lysotypie von S.typhi und S.paratyphi B.

Brandley(5) konnte 23 in englischen Grafschaften in einem Zeitraum von 2 Jahren auftretende Typhusfälle, hervorgerufen durch den Lysotypen D_4, durch die Lysotypie auf einen milchinfizierenden Dauerausscheider zurückführen. Weitere Beispiele für die Brauchbarkeit der Lysotypie finden sich u.a. bei Brandis(6), Moser(34), Ortel(37), Rische(44), Rohne(45), Schmidt und Lenk(48) und Wüstenberg(52).

Die Lysotypie von S.typhi und S.paratyphi B ist soweit entwickelt worden, daß man in der Lage ist, die geographische Verteilung der Lysotypen zu erfassen. So berichtet Edlinger(12) über die Verteilung der Lysotypen in Österreich. Freytag(14) gewann mit Hilfe der Lysotypie Einblicke in die regionale Verteilung von Salmonellatypen. Gärtner (15) berichtete über den hohen Anteil des in Deutschland sonst seltenen Typen Dundee im Saarland. Schmidt und Lenk(48) konnten die Verteilung der S.paratyphi B-Typen in Berlin darstellen.

Im Jahre 1958 legte Nicolle in Stockholm anläßlich des VII. internationalen Mikrobiologenkongresses einen Bericht über die Verteilung der Lysotypen in verschiedenen Ländern vor. Brandis et al berichteten über die Verteilung der Lysotypen in der Bundesrepublik Deutschland im Zeitraum von 1958-1965(8,9).

Als besonders wertvoll erwies sich die Lysotypie in Fragen des Staphylokokken-Hospitalismus(32).

Mit der Lysotypie von E.coli-Serotypen gelang es Nicolle(36), die ätiologische Bedeutung bestimmter E.coli-Typen für die Säuglingsenteritis nachzuweisen.

V Die Klebsiella-Lysotypie

1. Geschichte der Klebsiella-Lysotypie

1925 berichtete Hadley(17) über die spezifische Wirkung von Phagen gegen Klebsiella pneumoniae(Friedländer), K.ozaenae, K.rhinoscleromatis und unterteilte die Friedländer-

bakterien mit Hilfe von Phagen in vier Subtypen.
Präsek(39) isolierte einen spezifischen Phagen gegen Klebsiella rhinoscleromatis. Dieser Phage bewirkte das Auftreten kapselloser Modifikationen des Bacterium rhinoscleromatis. Diese Modifikation wurde als Antigen für die Ausführung spezifischer Agglutinationsproben im Serum Rhinoskleromkranker verwendet. Ebenso bediente sich Goslings(16) des durch Phagenwirkung bedingten Kapselverlustes bei Klebsiellen für deren serologische Differenzierung.
Mucha(35) identifizierte Rhinoskleromerreger mit streng spezifischen Sklerombakteriophagen.

Desgleichen beschrieb Kurylowicz(28) mit Hilfe streng spezifischer Bakteriophagen Unterschiede zwischen Klebsiella rhinoscleromatis und K.pneumoniae.
Rakieten(43)differenzierte Klebsiella-Stämme mit Hilfe spezifischer Phagen. Er typisierte die K.pneumoniae, Typ B-Stämme mit 5 Phagen, die Typ A-Stämme mit 6 Phagen, die sogenannten Aerobacter-Stämme mit 7 Phagen. Da jedoch nur eine geringe Anzahl von Stämmen typisiert worden ist, läßt sich nichts über eine besondere Typenverteilung aussagen.
Humphries(24) beschrieb die Spezifität eines Phagens gegen Klebsiella pneumoniae Typ A, während Park(38) einen solchen gegen Typ B beschreiben konnte.
Im Jahre 1964 verwendete Milch(33)spezifische Klebsiella-Phagen zur Erstellung eines Lysotypieschemas.
Krasilnikov(27) typisierte Sklerombakterien mit Bakteriophagen. Przondo-Hessek(42) arbeitete mit einer erweiterten Anzahl spezifischer Klebsiella-Phagen, um epidemiologische Fragen zu klären.
Die Lysotypieverfahren nach H.Milch und A.Przondo-Hessek werden Gegenstand spezieller Untersuchungen dieser Arbeit sein.

2. Verfahren zur Gewinnung von Klebsiella-Phagen

Eörsi, Jablonszky und Milch(13) untersuchten zwecks Gewinnung und Anreicherung von Klebsiella-Phagen Stuhlproben von Säuglingen. Da die Kenntnis dieses Verfahrens für die Durchführung der Klebsiella-Lysotypie von Wichtigkeit ist, wird es nachfolgend beschrieben.

Es wurden in 6-8 ml Hefebouillon mit einem pH-Wert von 7,2 bis 7,4 Stuhlproben von Säuglingen suspendiert. Dabei wurde soviel Stuhl verwendet, daß die Viskosität der Suspension der einer 24-stündigen Coli-Bouillonkultur entsprach. Nach Zentrifugation für 10 min. bei 2000 Upm erfolgte die Abtrennung des Überstandes, der anschließend für 30 min. in einem Wasserbad bei 60°C erhitzt wurde. Bis zum Phagennachweis im derart behandelten Überstand wurde die Suspension bei +4° C aufbewahrt.

Der Phagennachweis erfolgte, indem zwei Stunden alte Bouillonkulturen der Indikatorstämme mit einer Öse in einpfenniggroßen Flächen auf eine Agarplatte überimpft wurden.
Nach einer Trocknungszeit von 6 bis 10 min. wurde dann mit einer Öse ein Tropfen Phagensuspension entnommen und auf die Kulturen aufgetropft. Nach einer Bebrütungszeit von 8 h bei 37°C erfolgte die Ablesung der Reaktion.
Um reine Phagenpräparationen zu erhalten, wurden die Phagensuspensionen soweit verdünnt, daß einzelne Plaques entstanden. Ihr Durchmesser und ihre Morphologie wurden nach 18-stündiger Bebrütung bei 37°C beurteilt. Dann erfolgte die Abimpfung der Phagenplaques, um die Stabilität der Plaquetypen zu prüfen. Die Feststellung der lytischen Aktivität der Phagenpräparationen wurde mit dem Propagationsstamm und den anderen zur Propagation kommenden Stämmen durchgeführt.
Milch(33) konnte mit Hilfe der von ihr isolierten 12 Klebsiella-Phagen und eines Enterobacter-Phagen bei der Untersuchung von 802 Klebsiella-Stämmen 13 Lysotypen unterscheiden. Die Klebsiella-Stämme stammten aus Säuglingsstühlen und waren mit Hilfe von Eosin-Methylenblauplatten, Endoagarplatten und Desoxycholat-Citrat-Agarplatten isoliert und auf Grund ihres biochemischen Verhaltens identifiziert worden.
Przondo-Hessek(40) gab ein Verfahren zur Isolierung und Typisierung an, das wegen seiner Bedeutung für die Klebsiella-Lysotypie ebenfalls beschrieben werden soll:
Die auf Phagen zu untersuchende Probe(meist Kloakenwasser) wurde in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und für 2 mal je 30 min.bei 4000 Upm zentrifugiert.
Vom Überstand wurden mehrere Tropfen auf eine mit einer 4-stündigen Bouillon des Klebsiella-Stammes beimpften Fleischwasseragarplatte aufgetropft. Nach einer Bebrütungszeit von 6 h bei 37°C wurden die aufgetretenen Phagenplaques ausgezählt.
Die Reinzüchtung der Phagen erfolgte in Anlehnung an die Methode von Craigie und Yen(11) durch Überimpfung des Phagenmaterials aus dem Plaquesbereich in eine mit dem Propagationsstamm beimpfte und bebrütete Nährbouillon. Diese Überimpfungen wurden entsprechend der Erfahrung von Hammarström(19) 5 mal wiederholt. Zur Anreicherung der gereinigten Phagen wurden 0,1 ml Phagensuspension zusammen mit 0,1 ml einer frischen Bouillonkultur (4 h bei 37°C bebrütet) des Propagationsstammes in 10 ml Nährbouillon für 4 h bei 37°C bebrütet.

Dann wurden durch Zentrifugation (30 min. bei 4000 Upm) und Filtration (Coli-5 Filter) die Bakterien entfernt. Die RTD (routine test dilution, das ist diejenige Verdünnung der Phagen, die für die Routinemethode der Lysotypie angewandt wird) und die CTD (critical test dilution, das ist diejenige Verdünnung der Phagensuspension, bei der es gerade noch zur konfluierenden

Lysis mit dem Typenstamm kommt) wurde in Anlehnung an die Methode von Craigie und Yen(11) bestimmt: 0,2 ml einer 4-stündigen Bouillonkultur des homologen Bakterienstammes wurden auf eine Fleischwasseragarplatte aufpipettiert und ausgespatelt. Nach Antrocknen der Kultur wurden die Phagensuspensionen in steigender Verdünnung aufgetropft und nach 6 h Bebrütung bei 37°C diejenige Konzentration ermittelt, bei der gerade noch eine vollständige Lysis des Typenstammes zu beobachten war.

Bei der Typisierung von Klebsiella-Stämmen verfuhr Przondo-Hessek wie folgt: Zunächst wurden die Klebsiella-Stämme fraktioniert auf einer Fleischwasseragarplatte[1] ausgestrichen.

Nach 24-stündiger Bebrütung wurden Einzelkolonien in Bouillon überimpft und diese für 4 h bei 37°C bebrütet. Dann wurde mit 2 ml der 4-stündigen Bouillonkultur eine 20 ml Agarmedium[2] enthaltende Petrischale überschwemmt und der Überstand abpipettiert. Nach Antrocknen der Kultur wurden die Phagensuspensionen, die nach der Methode von Hoff und Drake (20) isoliert und vermehrt worden waren, aufgetropft, die Platten dann zum Trocknen bei Zimmertemperatur belassen und anschließend für 6 h bei 37°C bebrütet. Darauf erfolgte die 1.Ablesung, der sich eine 2.nach Aufbewahrung der Platten bei +5°C für 18 h anschloß.

Przondo-Hessek konnte mit diesem Typisierverfahren bei 851 Klebsiella-Stämmen mittels 34 Bakteriophagenpräparationen 194 verschiedene Lysisbilder unterscheiden.

B Eigene Untersuchungen

I Material und Methoden

H. Milch (persönliche Mitteilung) übergab uns einen Satz Bakteriophagen, mit dem sie in Erweiterung ihrer früheren Versuche die Typisierung von Klebsiella-Stämmen erprobte.

---

1) Nährboden für die Reinzüchtung von Klebsiella-Stämmen:

Agar-Agar	20 g	Laktose	10 g
Pepton	5 g	Bromkresolpurpur	0,025 g
Fleischextrakt	3 g	Aqua dest.ad	1000 g
		pH	6,8 bis 7

2) Nährboden für die Typisierung von Klebsiella-Stämmen:

Difco-Agar	1,2 g	Na_2HPO_4	0,2 g
Pepton	1,0 g	Aqua dest.ad	100 g
NaCl	0,3 g	pH	7,2

Dieser Phagensatz stellte eine Kombination der von Przondo-Hessek und H. Milch verwendeten Bakteriophagen dar.[1)]

1. Die Propagation der Testphagen

Folgende Testphagen wurden propagiert: Die Phagen I bis XII (Herkunft von Przondo-Hessek), die Phagen XIII bis XV (Herkunft von Milch), ferner die Phagen 4, 7, 35 sowie der Enterobacter-Phage E_{14} (Herkunft von Milch).
Folgende Klebsiella-Stämme wurden für die Vermehrung der Phagen verwendet:

Tabelle 1 Die zur Phagenpropagation verwendeten Klebsiella-Stämme

Klebsiella-Stämme	Phagen
K-67 264/1	I
K-59 2212	II
K-14 1193	III
K-40 8588	IV
K-68 265/1	V
K-3 L-174	VI
K-30 7824	VII
K-58 636	VIII
K-2 B5055	IX
K-11 390	X
K-24 1680	XI
K-42 1702	XII
K 71	XIII
K-62 344	XIV
K 997	XV
K-33 6168	4
K-41 6177	7
K-70 167	35
Enterobacter 14	E_{14}

Die Propagationsstämme wurden auf Endoagarplatten fraktioniert ausgestrichen und 24 h bei 37°C bebrütet. Von den Einzelkolonien wurden 10 ml-Bouillon-Röhrchen (hergestellt mit Liebig Fleischextrakt) beimpft und diese für 24 h bei 37°C bebrütet. Zwei Tropfen dieser Bouillonkultur wurden mit zwei Tropfen der Original-Phagensuspension (Budapest) in 10 ml-Bouillon (s.o.) eingegeben, diese 24 h bei 37°C bebrütet und anschließend für weitere 24 h im Kühlschrank zwischen +4 bis +8°C belassen. Nach Zentrifugation für 30 min. bei 3000

1) Frau Dr. H. Milch vom Staatlichen Hygiene-Institut in Budapest möchten wir an dieser Stelle für die Überlassung der für die Klebsiella-Lysotypie notwendigen Phagen und Stämme danken.

Upm wurde der Überstand abpipettiert und für 40 min. bei 56°C in einem Wasserbad erhitzt. Bei den stärker temperaturempfindlichen Phagen III und VIII mußte auf eine Erhitzung verzichtet werden. Diese Anreicherungen wurden zur Entkeimung durch Membranfilter mit einer Porengröße von 0,2 bis 0,3 mü geschickt.

2. Vorbereitung der homologen Teststämme, sowie der zu typisierenden Stämme für die Lysotypie von Klebsiella-Stämmen

Von Einzelkolonien des entsprechenden Klebsiella-Stammes ausgehend, wurde eine sogenannte 0,7 ml-Bouillon (hergestellt aus Casein-Pepton tryptisch verdaut, Merk) beimpft und für 2 h bei 37°C bebrütet. Darauf erfolgte die Beimpfung von Wasserblau-Dextrose-Platten (hergestellt auf der Grundlage der Liebig-Agar-Platten, wie sie für die Lysotypie von S. typhi und S. paratyphi B verwendet werden) in pfenniggroßen Plaques. Nach Antrocknung der Keimsuspension wurde die Phagensuspension in der RTD (routine test dilution) und konzentriert aufgetropft. Das Ergebnis konnte nach 3-stündiger Bebrütung bei 37°C abgelesen werden. Eine zweite Ablesung schloß sich nach 24-stündiger Aufbewahrung der Ansätze bei Zimmertemperatur an.

3. Herstellung der Routine Test Dilution für die Lysotypie

Die Verdünnung der selbst hergestellten Phagensuspensionen erfolgte mit Difco-Bacto-Nährbouillon in Zehnerpotenzen, gegebenenfalls wurden Zwischenverdünnungen hergestellt. Als RTD wurde diejenige Verdünnung gewählt, die noch eine starke Lysis ergab (z.B. Cl= konfluierende Lysis, < Cl=weniger als konfluierende Lysis). Auf diese Weise konnte das in der Tabelle 2 wiedergegebene Lysisspektrum erstellt werden.

4. Die Lysotypie mit den Phagen 2, 4, 6, 42, 106, 165, 171, 181, 328, 832, 937, 765/1

Ein zweiter Bakteriophagensatz, wie er zunächst von Milch(33) für die Lysotypie verwendet worden war, wurde in gleicher Weise angereichert und zu einem weiteren Lysotypieversuch verwendet. Die Phagen und deren Propagationsstämme sind in der Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle 2 Lysisspektrum der in Berlin propagierten Phagen

Klebsiella-Teststamm	Lysotyp	Typisierphagen in der RTD I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35
		10^{-1}	10^{-2}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-3}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-1}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
K67 264/1	I	<Cl	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	Cl	<Cl	<Cl
K99 2212	II	$+++_m$	<Cl	Cl	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<Ol	-	<Ol	<Ol	-
K14 1193	III	$++_{m\mu}$	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K40 8588	IV	-	-	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	$+++_{m\mu}$	-	-	-	-	-
K68 265/1	V	<sCl	-	Cl	-	Cl	-	-	<<Ol	-	-	-	-	-	-	-	<sCl	-	-
K3 L-174	VI	-	-	<<Ol	-	-	<Cl	-	-	-	-	$+++_m$	-	-	-	-	-	-	-
K30 7824	VII	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K58 636	VIII	-	-	-	-	-	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-
K2 B5055	IX	-	-	<<Ol	<Cl	-	-	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K11 390	X	$+++_m$	<Cl	<Ol	-	-	-	-	<<Ol	-	sCl	-	-	sCl	-	-	<Ol	<Ol	-
K24 1680	XI	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-
K42 1702	XII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-
K71	XIII	$+++_m$	<Cl	<Ol	-	$+++_m$	-	-	<<Ol	-	-	-	-	Cl	-	-	<Ol	<Ol	-
K62 344	XIV	-	<Ol	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Ol	<Ol	-	<<Ol	<Ol	-
K997	XV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-
K33 6168	4	-	<Ol	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	$++_m$	-	-	<Cl	-	-
K41 6177	7	<sCl	<Cl	Cl	-	$+_m$	-	-	-	-	-	-	-	$+++_m$	-	-	Cl	<Cl	-
K70 167	35	<Cl	Cl	Cl	-	5pl	-	-	<Cl	sCl	-	-	-	Cl	-	<Ol	Cl	<Ol	<Cl

Erläuterung:
Cl=konfluierende Lysis
<Cl=weniger als Cl
sCl=semikonfluierende Lysis
<sCl=weniger als sCl
++=bis zu 40 Löchern
+=bis zu 10 Löchern

Ol=opaleszierende Lysis
<Ol=weniger als Ol
<<Ol=weniger als <Ol
+++=mehr als 40 Löcher
+=bis zu 20 Löchern
1,2,3 e.t.c.=Zahl der Löcher

n=mit unbewaffnetem Auge sichtbare("normale")Löcher
s=small,d.h.kleiner als n
m=minivit,d.h.nur mit Lupe(8X)sichtbar
μ=weniger als m
RTD: cc=konzentriert
10^{-1},10^{-2} e.t.c.=100-fache,1000-fache Verdünnung

Tabelle 3 Die zur Propagation verwendeten Klebsiella-Stämme

Klebsiella-Stämme	Phagen
K2	2
K4	4
K9	6
K71	42
K196	106
K341	165
K344	171
K361	181
K596	328
K1069	832
K937	937
K997	765/1

Die Phagen wurden alle konzentriert aufgetropft. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung unseres Lysespektrums mit dem von H.Milch und Z.Deák, wie durch den Vergleich beider Ergebnisse zu sehen ist (Tabelle 4).

5. Herkunft und Gewinnung der zu typisierenden Klebsiella-Stämme

a) Herkunft der Klebsiella-Stämme

Von 423 typisierten Klebsiella-Stämmen stammten 59 aus dem Stuhl darmgesunder Patienten, die übrigen wurden aus städtischen Berliner Abwässern isoliert.

b) Verfahren zur Isolierung von Klebsiella-Stämmen

(1) Die Abwasserproben wurden für 30 min. bei 3000 Upm zentrifugiert, die Zentrifugate in Nährbouillon geimpft, und diese 24 h bei 37°C bebrütet. Anschließend wurde die Anreicherungsbouillon zur Gewinnung laktose positiver, schleimig wachsender Kolonien fraktioniert auf Endoagarplatten ausgestrichen.

(2)Unterschiedliche Abwassermengen wurden durch Coli-5 Filter geschickt. Anschließend erfolgte eine Bebrütung der in 50 ml Tetrathionatbouillon eingelegten Filterscheiben für 24 h bei 37°C. Die so gewonnenen Bouillonkulturen wurden fraktioniert auf Wilson-Blair Agar ausgestrichen und für 48 h bei 37°C bebrütet.

Es folgte die Übertragung von Einzelkolonien auf Endoagarplatten, wo sie fraktioniert ausgestrichen und für 24 h bei 37°C bebrütet wurden. Die isolierten Stämme wurden in der Bunten Reihe untersucht. Folgende Eigenschaften wiesen auf Klebsiella-Stämme hin:

Tabelle 4 Vergleich der Lysespektren der in Berlin und der in Budapest propagierten Phagen

Klets[illegible]-Teststamm		Typisierphagen												
		2	4	6	42	106	165	171	181	328	832	[illegible]	[illegible]	
K2	a	Cl	-	-	Cl	sCl	-	-	Cl	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	±	Cl	Cl	-	Cl	-	-	-	-	
K4	a	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	b	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
K9	a	-	-	Cl	-	-	-	<<Cl	-	<<Cl	-	-	-	
	b	-	-	Cl	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	
K71	a	Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	
K196	a	<Cl	-	-	<sCl	Cl	<Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	-	Cl	Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
K341	a	<Cl	-	-	-	Cl	<Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	-	Cl	Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
K344	a	Cl	-	-	sCl	<Cl	<Cl	Cl	<Cl	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	Cl	Cl	Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
K361	a	Cl	-	-	Cl	Cl	sCl	Cl	Cl	-	-	-	-	
	b	Cl	-	-	Cl	Cl	Cl	Cl	Cl	-	-	-	-	
K596	a	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	
	b	-	Cl	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	
K1069	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl	Cl	
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl	Cl	
K937	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	<Cl	Cl	
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl	Cl	
K99[illegible]	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	<Cl	Cl	
	b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	Cl	Cl	

Erläuterung:
a=Lysespektrum der in Berlin propagierten Phagen
b=Lysespektrum der in Budapest propagierten Phagen

Tabelle 5 Eigenschaften der Klebsiella-Stämme

Indolbildung	d
Gelatineverflüssigung	-
Voges-Proskauer-Reaktion	d
Methylrot-Reaktion	-
Harnstoffspaltung	+
Nitratreduktion	+
Wachstum im KCN-Milieu	+
Dextrosespaltung mit Gasbildung	+
Laktosespaltung mit Gasbildung	+
Saccharosespaltung mit Gasbildung	+
Schwefelwasserstoffbildung	-
Adonitbildung	d
Beweglichkeit	-
Cytochromoxydase	-

Erläuterung:
+ =positive Reaktion
- =negative Reaktion
d =unterschiedliche Typen

II Ergebnisse der Lysotypie von 423 Klebsiella-Stämmen

1. Ergebnis der Typisierung von 423 Klebsiella- und 78 Enterobacter-Stämmen mit dem Phagensatz I bis XV,4,7,35,E14 (Kombination der Phagen von A. Przondo-Hessek und H. Milch)

a) Die Spezifität der Klebsiella-Phagen

Es zeigte sich, daß die Klebsiella-Phagen nur Klebsiella-Stämme angriffen, aber nicht Enterobacter-Stämme. Auch der Enterobacter-Kontrollphage war spezifisch und löste keine Klebsiella-Stämme, sondern nur Enterobacter-Stämme;

b) Verteilung der Klebsiella-Stämme auf die Lysotypen

Von insgesamt 423 typisierten Klebsiella-Stämmen zeigten 301=71,1% eine Lysisreaktion mit einem oder mehreren Klebsiella-Typisierphagen. Von 423 Klebsiella-Stämmen konnten 211, das sind 49,9%, eindeutig einem bestimmten Lysotyp zugeordnet werden. 212 Klebsiella-Stämme zeigten atypische oder keine Reaktionen und waren somit unbestimmbar.
Folgende Verteilung der Lysotypen ergab sich:

Tabelle 6 Anzahl der typisierten Klebsiella-Stämme und ihre Lysotypen

Lysotyp	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	XI	XIII	XV	4	7
Anzahl der Stämme	4	10	107	6	1	6	11	13	2	5	2	9	34	1
in %	1,9	4,7	50,7	2,8	0,5	2,8	5,2	6,1	0,9	2,4	0,9	4,3	16,1	0,5

Häufige Lysotypen waren der Lysotyp III mit 50,7% von 211 Klebsiella-Stämmen und der Lysotyp 4 mit 16,1%.

c) Unterscheidung der Klebsiella-Lysotypen nach der Herkunft der Stämme

Es wurde untersucht, ob die aus dem Berliner städtischen Abwasser isolierten Klebsiella-Stämme eine andere Verteilung in Bezug auf die Lysotypen zeigten als diejenigen Klebsiella-Stämme, die aus dem Stuhl darmgesunder Menschen isoliert worden waren.

Es ergab sich folgende Verteilung der Stämme auf die Lysotypen:

Tabelle 7 Anzahl der aus Berliner städtischen Abwässern und dem Stuhl darmgesunder Patienten isolierten Klebsiella-Stämme und ihre Lysotypen

Anzahl der Stämme	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	XI	XIII	XV	4	7
Abwasser	4	7	93	4	1	4	10	13	1	5	2	6	30	1
Darm-gesunde	0	3	14	2	0	2	1	0	1	0	0	3	4	0

d) Beispiele für nicht typisierbare Stämme

Von 301 reagierenden Klebsiella-Stämmen zeigten 90 der Stämme Lysisreaktionen, die eine Zuordnung zu einem bestimmten Lysotyp nicht gestattete. Die Tabelle 8 zeigt einige Beispiele.

Von den 90 nicht eindeutig im Sinne des Typisierschemas (vgl. Tabelle 8) reagierenden Stämmen stammten 80% der 90 Stämme aus Berliner städtischen Abwässern und 20% aus dem Stuhl darmgesunder Patienten.

Anteilsmäßig zeigte sich, daß von der Gesamtzahl aller aus dem Stuhl darmgesunder stammender Stämme(59) 30,5%, bei den aus dem Abwasser stammenden Stämme(364) hingegen 19,7% nicht eindeutig zu typisieren waren.

Tabelle 8 Reaktionsweisen von nicht eindeutig einem Lysotyp zuzuordnenden Stämmen

Klebsiella-Teststamm	Typisierphagen in der RTD																		Lysotyp
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35	
14/4a	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<<sCl	-	4?
Va763	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	III?
18/21/1	<sCl	-	Cl	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	<sCl	-	-	-	III?
Va762/15	-	<Cl	<<Cl	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	+++	7?
Va758/12/1	sCl	Cl	Cl	-	-	-	<Cl	-	-	-	sCl	-	-	-	-	Cl	sCl	-	VII?
Schl0/4d/1	-	Cl	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<Cl	<Cl	35?
Va791/1	+++	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	+++	-	III?
18/36/1	<<sCl	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	-	-	-	-	III?
KlA5054	sCl	-	Cl	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	III?
Ge1/9	-	<<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	<<Cl	-	II?
Va852/1	-	sCl	Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	VI?
K2a	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	<Cl	-	II?
17/1c	<<Cl	<Cl	<Cl	-	-	<Cl	-	-	-	-	++	-	-	-	-	<Cl	-	-	II?
18/11/1	+++	<Cl	<Cl	-	-	sCl	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	<Cl	-	-	II?
Ge7/5	+++	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	sCl	-	II?
Ge3/5	+++	Cl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<<<Cl	-	II?
14/4d	<Cl	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	II?
18/34/11	<sCl	<sCl	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	-	-	II?
19/38/1	<sCl	-	Cl	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	III?
Schl1/6c	sCl	-	Cl	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	III?
Ge1/6	-	Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<Cl	-	II?
Ge1/4	-	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	<Cl	-	I?
K3o1	+++	<Cl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	<Cl	-	<Cl	sCl	-	II?
Ge1/2	<<Cl	<Cl	Cl	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<Cl	-	-	VII?
Ge10/2	<sCl	sCl	<Cl	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	III?

e) Das Indolverhalten der untersuchten Klebsiella-Stämme

Da das Indolverhalten der untersuchten Stämme differierte, wurde es zu den Lysotypen in Beziehung gesetzt. Die Tabelle 9 spiegelt das zahlenmäßige Verhältnis von indolpositiven zu indolnegativen Klebsiella-Stämmen bei einzelnen Lysotypen wider.

Tabelle 9 Die Lysotypen der indolpositiven und der indolnegativen Klebsiella-Stämme

Herkunft	Indol-verhalten	Lysotypen und Anzahl der Stämme														Summe
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	XI	XIII	XV	4	7	
Stuhl	positiv	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	negativ	0	2	10	2	0	2	1	0	1	0	0	3	4	0	25
Abwasser	positiv	2	5	17	0	0	1	0	2	0	0	0	0	14	1	42
	negativ	2	2	76	4	1	3	10	11	1	5	2	6	16	0	139
Stuhl und Abwasser	positiv	2	6	21	0	0	1	0	2	0	0	0	0	14	1	47
	negativ	2	4	86	6	1	5	11	11	2	5	2	9	20	0	164
insgesamt	positiv und negativ	4	10	107	6	1	6	11	13	2	5	2	9	34	1	211

Die nicht sicher typisierbaren Stämme und die mit keinem Testphagen reagierenden Stämme zeigten folgende Verteilung in Bezug zum indolpositiven bzw.- negativen Verhalten:

Tabelle 10 Indolverhalten von Klebsiella-Stämmen mit atypischer und fehlender Lysisreaktion

Herkunft	Indolverhalten	atypische Lysereaktion	keine Lysereaktion
Stuhl	positiv	6	3
	negativ	12	20
Abwasser	positiv	27	16
	negativ	45	83
insgesamt	positiv und negativ	90	122

Zweck dieser Aufschlüsselung war es, festzustellen, ob indolpositive und indolnegative Klebsiella-Stämme bestimmten Lysotypen zugeordnet werden können, um weitere Unterteilungsmöglichkeiten für epidemiologische Zwecke zu erhalten.

Bei den Lysotypen I, II, III, VI, VIII und 4 waren sowohl indolpositive als auch indolnegative Stämme zu finden (46 indolpositive und 128 indolnegative Stämme, insgesamt 174), bei den

Lysotypen IV, V, VII, IX, XI, XIII und XV nur indolnegative Stämme(29) und beim Lysotyp 7 nur ein indolpositiver Stamm.
Da bei allen einzelnen Lysotypen die Zahl der festgestellten Stämme insgesamt zu gering ist, wird es weiterer Untersuchungen bedürfen, um festzustellen, ob die Indolbildung als besonderes Stoffwechselkriterium ein Hinweis für die Zugehörigkeit bestimmter Biotypen zu den Lysotypen sein kann und/oder eine Unterteilung von Lysotypen mittels der Indolbildung möglich ist, wie es bei der Lysotypie von S.typhi und S.paratyphi B beispielsweise mit der Feststellung bestimmter Vergärungstypen praktiziert wird.

f) Besonderheiten bei der Lysotypie atypisch wachsender Klebsiella-Stämme
Bei einigen Klebsiella-Stämmen wurde auf Endoagarplatten nach einer Bebrütung von 24 h bei 37°C nur eine geringe oder keine Schleimbildung beobachtet, so daß sie im Wachstum E.coli ähnelten.
Von insgesamt 95 (= 100%) atypisch wachsenden Stämmen wurden 23(24,2%) von keinem der Testphagen gelöst.
44 Stämme (46,3%) ließen sich einem Lysotypen zuordnen. Dabei ergab sich folgende Verteilung auf die Lysotypen:

Tabelle 11 Verteilung atypisch wachsender Klebsiella-Stämme auf die Lysotypen

Lysotyp	I	II	III	IV	VIII	XI	XIII	XV	4
Anzahl der Stämme	4	4	19	2	2	1	1	1	10

Bei 28 Stämmen(29,4%) deren Lysisverhalten keine eindeutige Zuordnung zu einem Lysotypen erlaubte, zeigte sich ein E.coli ähnelndes Wachstum. Die Wuchsform steht offenbar in keiner Beziehung zur Typisierbarkeit der Stämme.
Anderseits waren bei 16 aus Berliner städtischen Abwässern isolierten Stämmen nach einer Bebrütungszeit von 3 h bei 37°C auf Endoagarplatten eine so starke Schleimbildung zu beobachten, daß eine Ablesung der Lysisreaktionen schon nach 2-stündiger Bebrütung bei 37°C notwendig wurde, da sonst mögliche Lysisreaktionen durch die starke Schleimbildung verdeckt worden wären.
Zwei dieser stark Schleim bildenden Stämme wiesen die Lysotypen III und IV auf, die restlichen 14 Stämme zeigten keine Reaktion mit den Testphagen. Es empfiehlt sich daher, besonders schleimig wachsende Kulturen frühzeitig auf Lysisreaktionen zu untersuchen.

g) Das Adonitverhalten der untersuchten Stämme

Unter den 423 untersuchten Klebsiella-Stämmen fanden sich 36 die Adonit nicht zerlegten, obwohl Klebsiella-Stämme stets adonitpositiv sein sollten. Dennoch konnte der größte Teil dieser Stämme eindeutig typisiert werden.

Die Adonit nicht zerlegenden Stämme verteilten sich auf folgende Lysotypen:

Tabelle 12 Verteilung der adonitnegativen Klebsiella-Stämme auf die Lysotypen

Lysotyp	II	III	VIII	IX	XV	4	Summe
Anzahl der Stämme	1	16	1	1	4	1	24

Die Anzahl der adonitnegativen Stämme unter den nicht mit einem Testphagen reagierenden Stämmen und unter denjenigen Stämmen, die auf Grund ihrer Reaktion mit den Testphagen nicht eindeutig einem Lysotyp zuzuordnen waren, zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 13 Anzahl der nicht typisierbaren adonitnegativen Klebsiella-Stämme

	keine Lysisreaktion	Lysisreaktion, aber nicht typisierbar	Summe
Anzahl der adonitnegativen Stämme	9	3	12

Da sich die adonitnegativen Stämme genauso typisieren ließen wie die adonitpositiven, könnte das Adonitverhalten ebenfalls zur Subdivision für epidemiologische Zwecke berücksichtigt werden.

2. Lysisreaktionen der Enterobacter-Stämme mit dem Testphagen E_{14}

Bei der Austestung der biochemisch als Enterobacter-Stämme definierten Stämme mit dem Kontrollphagen E_{14} ergab sich bei uns und bei H.Milch folgendes Ergebnis:

Tabelle 14 Anzahl der mit dem Kontrollphagen E14 reagierenden und nicht reagierenden Enterobacter-Stämme in Berlin und in Budapest

	Lyse mit Phage E_{14}	Keine Lyse mit Phage E_{14}	Summe
Berlin	16	62	78
Budapest	40	59	99

Es zeigte sich, daß die Budapester Enterobacter-Stämme in einem höheren Prozentsatz mit dem Enterobacterphagen E_{14} reagierten. Für die Definition von Enterobacter-Stämmen scheint die Verwendung des Phagen E_{14} als Mittel zur Speciesdefinition von Interesse, da bei Enterobacter eine größere Zahl differenter Biotypen vorkommen.

III Diskussion der Ergebnisse der Klebsiella-Lysotypie

1. Beurteilung der in Berlin und Budapest hergestellten Phagensuspensionen für die Klebsiella-Lysotypie

Beim Vergleich beider Lysespektren (Tabelle 15) ergibt sich, daß die Berliner Phagensuspensionen ein breiteres Lysespektrum besitzen, d.h. die Teststämme häufiger lösen.
Besonders der Phage III, der nach dem von H.Milch angegebenen Lysespektrum nur die Stämme K14 1193, K2 B5055 und K62 344 lösen sollte, löste hier außerdem die Stämme K67 264/1, K59 2212, K40 8588, K68 265/1, K3 L174, K11 390, K24 1680, K71, K33 6168, K41 6177 und K70 167.
Wiederholte Anreicherungen und die Festsetzung der RTD sowie die erneute Prüfung verschiedener Einzelkolonien der Klebsiella-Teststämme bestätigten dieses Ergebnis. Darüber hinaus reagierte der in Berlin angereicherte Phage III insofern anders, als er seinen eigenen Propagationsstamm schwächer als andere Teststämme löste.
Weitere Phagensuspensionen wichen in folgenden Fällen vom Budapester Lysespektrum ab:
Nicht im Schema angegebene Reaktionen zeigte der Phage VIII.
Er löste die Stämme K68 265/1, K11 390 und K70 167.
Der Phage XI löste den Stamm K3 L174 und der Phage XIII zeigte Lysisreaktionen mit den Stämmen K67 264/1 und K40 8588. Der Phage XV zeigte Lysisreaktionen mit den Stämmen K58 636 und K70 167. Der Phage 7 löste den Stamm K11 390.
Anderseits konnte in einigen Fällen keine Reaktion beobachtet werden, die im Budapester Lysisspektrum angegeben ist.
So löste der Phage I nicht die Stämme K62 344 und K33 6168, der Phage X nicht die Stämme K59 2212, K68 265/1 und K33 6168. Der Phage XIII zeigte keine Reaktion mit dem Stamm K42 1702, der Phage 7 löste nicht den Stamm K33 6168, der Phage 35 nicht die Stämme K59 2212, K42 1702 und K71.
Bemerkenswert ist, daß außer der Reaktion des Phagen 35 mit dem Stamm K59 2212, die anderen von unserem Lysisspektrum abweichenden Reaktionen relativ schwach ausfielen.

Tabelle 15 Vergleich der Lysespektren der in Berlin und der in Budapest propagierten Phagen

Klebsiella-Teststamm	Lysotyp		Typisierphagen in der RTD I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35
		a	10^{-1}	10^{-2}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-3}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-1}	cc	10^{-3}	10^{-1}	10^{-1}
		b	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	cc	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-1}	cc
K67 264,1	I	a	<Cl	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	Cl	<Cl	<Cl
		b	Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	sCl	Cl
K59 2212	II	a	+++ m	<Cl	Cl	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	Cl	<Ol	-	<Ol	<Ol	-
		b	sCl	Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	+	-	-	+++	2pl	-	sCl	Cl	Cl
K14 1193	III	a	++ mμ	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	sCl	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K40 3683	IV	a	-	-	<Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	+++ mμ	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K68 265/1	V	a	<sCl	-	Cl	-	Cl	-	-	<<Ol	-	-	-	-	-	-	-	<sCl	-	-
		b	+++	-	-	-	Cl	-	-	-	-	2pl	-	-	-	-	-	+	-	-
K3 L-174	VI	a	-	-	<<Ol	-	-	<Cl	-	-	-	-	+++ m	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K30 7824	VII	a	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K58 636	VIII	a	-	-	-	-	-	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2 B5055	IX	a	-	-	<<Ol	<Cl	-	-	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	sCl	Cl	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K11 390	X	a	+++ m	<Cl	<Ol	-	-	-	-	<<Ol	-	sCl	-	-	sCl	-	-	<Ol	<Ol	-
		b	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	+++	-	-	sCl	-	-
K24 1680	XI	a	-	-	<Ol	-	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 15 Vergleich der Lysespektren der in Berlin und der in Budapest propagierten Phagen (Fortsetzung)

Klebsiella-Teststamm	Lysotyp		Typisierphagen in der RTD I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35
		a	10^{-1}	10^{-2}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-3}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-1}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
		b	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	cc	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-1}	cc
K47 1702	XII	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	10pl	-	-	-	-	+++
K41	XIII	a	+++ m	<Cl	<Cl	-	+++ m	-	-	<<Cl	-	-	-	-	Cl	-	-	<Cl	<Cl	-
		b	+++	sCl	-	-	sCl	-	-	sCl	-	-	-	-	sCl	-	-	sCl	Cl	sCl
K42 344	XIV	a	-	<Cl	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	<Cl	-	<<Cl	<Cl	-
		b	+++	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	sCl	-	sCl	Cl	-
K997	XV	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[illegible]	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-
K37 6168	4	a	-	<Cl	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++ m	-	-	<Cl	-	-
		b	sCl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	7pl	-	-	sCl	-	-	sCl	sCl	-
K41 6177	7	a	<sCl	<Cl	Cl	-	+ m	-	-	-	-	-	-	-	+++ m	-	-	Cl	<Cl	-
		b	sCl	sCl	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	sCl	sCl	-
K70 167	35	a	<Cl	Cl	Cl	-	5pl	-	-	<Cl	sCl	-	-	-	Cl	-	<Cl	Cl	<Cl	<Cl
		b	sCl	Cl	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	++	sCl	Cl

Erläuterungen:
a=Lysespektrum der in Berlin propagierten Phagen
b=Lysespektrum der in Budapest propagierten Phagen

Obwohl die Berliner Phagensuspension nicht völlig in ihrem Lysisspektrum mit dem Budapester Schema übereinstimmt, wurde sie zur Typisierung der Berliner Klebsiella-Stämme verwendet. In einem Schriftwechsel mit H.Milch wurden die Gründe für die Differenzen in den Lysespektren diskutiert. Milch schrieb: "Die abweichenden Resultate können von der Verschiedenheit der Nährböden stammen (H.Milch, persönliche Mitteilung)."
Auch die ermittelten Routine-Test-Verdünnungen zeigten Abweichungen vom Budapester Originalschema, wie es aus der Tabelle 15 hervorgeht.

2. Erstellung eines neuen Lysespektrums in Anlehnung an Budapester Versuchsbedingungen.

a) Methode der Anreicherung

Aufgrund der Abweichungen vom Budapester Lysisspektrum erhielten wir von H.Milch eine Beschreibung der Budapester Propagationsbedingungen. Daraufhin reicherten wir unsere Phagen I bis XV,4,7,35 unter Budapester Propagationsbedingungen an, um zu prüfen, ob die Abweichungen im Typisierschema methodisch bedingt seien.
Es wurden folgende Veränderungen im Versuchsablauf vorgenommen:
Eine Einzelkolonie wurde für die Anreicherung statt für 24 h nur für 2 h bei 37°C in 2 ml Nährbouillon (vorher 10 ml) bebrütet. Danach wurden je zwei Tropfen dieser Kultur und zwei Tropfen der entsprechenden Phagensuspension in 10 ml Bouillon[1] eingeimpft und für 4 h bei 37°C bebrütet.
Eine Abkürzung der Bebrütungszeit erschien uns gerechtfertigt, da Przondo-Hessek(40) zeigen konnte, daß für die Propagation von Klebsiella-Phagen eine optimale Vermehrung schon nach einer 4-stündigen Bebrütungszeit erreicht ist. Dann soll die Vermehrung asymptotisch verlaufen.
Nach Zentrifugation des Ansatzes für 30 min.bei 3000 Upm wurde der Überstand (etwa 5 ml) für 40 min. bei 56°C im Wasserbad erhitzt.
Die Suspension der relativ temperaturempfindlichen Phagen III und VIII wurde nicht erhitzt, sondern durch Membranfilter mit der Porengröße von 0,2-0,3 mü geschickt. Das Verimpfen der Teststämme und das Auftropfen der zu prüfenden Phagensuspension erfolgte auf Nähragar, der aus der auf dieser Seite (s.Fußnote) angegebenen Nährbouillon mit Zusatz von 1,8% Agar bestand.

---

1) Folgende Nährböden zur Anreicherung und Verdünnung der Phagensuspension wurden verwendet: 75 g Rindfleischextrakt, 4,5 l Leitungswasser, 45 g Pepton, 12 g NaCl, 20 g Natriumphosphat, eingestellt mit 2 n NaOH, pH=7,4

Tabelle 16 Vergleich der Lysespektren der in Berlin und der in Budapest propagierten Phagen

Klebsiella-Teststamm	lyso-typ		Typisierphagen in der RTI I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	h	7	35
		a	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	cc	10^{-3}	cc	cc
		b	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-3}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	cc	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-1}	cc
K [illegible] 1	I	a	[illegible]	Cl	sCl	-	-		-	-	-	-	-	-	++	-	-	[illegible]Cl	[illegible]	Cl
		b	Cl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	sCl	Cl
K5[illegible]2012	II	a	sCl	Cl	+++ mu	-	sCl	-	-	-	-	sCl	-	-	++ m	+++	-	[illegible]Cl	Cl	<sCl
		b	sCl	Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	+	-	-	+++	[illegible]	-	sCl	Cl	Cl
K[illegible]3	III	a	+++ mu	-	+++ mu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	sCl	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K[illegible]	IV	a	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K[illegible]	V	a	sCl	<Cl	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-
		b	+++	-	-	-	Cl	-	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	+	-	-
K5[illegible]174	VI	a	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K30[illegible]624	VII	a	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K58 636	VIII	a	-	-	-	-	-	-	-	<<Cl	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K[illegible]5085	IX	a	-	+++ mu	-	-	-	-	-	-	<Cl	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	sCl	Cl	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K[illegible]80	X	a	<sCl	Cl	+++ mu	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	++ m	-	-	sCl	sCl	-
		b	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	+++	-	-	sCl	-	-
K[illegible]0[illegible]80	XI	a	+++ mu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 16 Vergleich der Lysespektren der in Berlin und der in Budapest bearbeiteten Phagen (Forsetzung)

Klebsiella-Teststamm	Lyso-typ		Typisierphagen in der RTD																		
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35
		a	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-2}	cc	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	cc 10^{-4}	10^{-1}	cc 10^{-1}	10^{-1}
		b	10^{-1}	10^{-1}	cc	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	cc	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-1}	-
K42 [illegible]	XII	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	10pl	-	-	-	-	+++
K71	XIII	a	sCl	Cl	+++ mμ	-	-	-	-	<<Ol	-	-	-	-	+++ m	-	-	sCl	<Ol	-
		b	+++	sCl	-	-	sCl	-	-	sCl	-	-	-	-	sCl	-	-	sCl	Cl	sCl
K62 344	XIV	a	+++ mμ	sCl	+++ mμ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++ m	<Ol	-	+++ mμ	Cl	-
		b	+++	sCl	sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	sCl	-	sCl	Cl	-
K997	XV	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Ol	-	-	-
		b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	-	-	-
K33 6168	4	a	+++ mμ	<Ol	++ mμ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	sCl	<Cl	-
		b	sCl	Cl	-	-	-	-	-	-	-	7pl	-	-	sCl	-	-	sCl	sCl	-
K41 6177	7	a	+++ mμ	<Cl	++ mμ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<<Ol	Cl	-
		b	sCl	sCl	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	sCl	sCl	-
K70 167	35	a	sCl	Cl	<sCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<Ol	<Cl	<Cl
		b	sCl	Cl	-	-	sCl	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	++	sCl	Cl

Erläuterung:
a=Lysespektrum aus Berlin
b=Lysespektrum aus Budapest

Die übrigen Propagationsbedingungen wurden nicht geändert.

b) Beurteilung des Lysespektrums

Auch unter den modifizierten Versuchsbedingungen ergaben sich Unterschiede zwischen dem von H. Milch angegebenen und unserem Lysespektrum (vergl. Tabelle 16).
Aus der Tabelle geht hervor, daß trotz veränderter Propagationsbedingungen keine bessere Übereinstimmung mit dem Budapester Lysespektrum erzielt werden konnte.

3. Diskussion der Ergebnisse der Lysotypie mit den Phagen I bis XV, 4, 7, 35

a) Die typisierbaren Stämme

Beim Vergleich unserer Lysotypieergebnisse mit dem von H. Milch (persönliche Mitteilung) fanden wir, daß von 423 untersuchten Stämmen 211 (=49,9%) eindeutig einem Lysotyp zuzuordnen sind.
H. Milch bestimmte bei 74,4% einen definitiven Lysotyp und hatte damit eine bessere Ausbeute.
Die Verteilung der Stämme auf die Lysotypen zeigt die Tabelle 17.

Tabelle 17 Verteilung der Klebsiella-Stämme auf die Lysotypen in Berlin und in Budapest.

Gefundene Lysotypen	Zahl der Stämme in Berlin	in %	Zahl der Stämme in Budapest in %
I	4	1,9	6,9
II	10	4,7	23
III	107	50,7	10,4
IV	6	2,8	0
V	1	0,5	0
VI	6	2,8	0
VII	11	5,2	43,3
VIII	13	6,1	0
IX	2	0,9	0
XI	5	2,4	0
XIII	2	0,9	0
XV	9	4,3	0
4	34	16,1	0
7	1	0,5	0

Wie aus der Darstellung hervorgeht, sind in Berlin mehr Typen gefunden worden als in Budapest.

Auffallend an unseren Ergebnissen ist die Häufigkeit des Lysotypen III. Die Stämme reagieren mit dem Phagen III unterschiedlich stark.
Dieses ist ein Hinweis darauf, daß der Lysotyp III sich nicht aus einheitlichen Stämmen zusammensetzt, sondern aus mehreren Subtypen besteht.

b) Die nicht typisierbaren Stämme

Besondere Beachtung schenkten wir denjenigen Stämmen, die nicht eindeutig einem Lysotyp zugeordnet werden konnten. Milch (persönliche Mitteilung) berichtete ebenfalls über Stämme, die wegen übergreifender und abweichender Reaktionen nicht eingereiht werden konnten.
In der Tabelle 8 sind einige Beispiele angeführt. So der Stamm 14/5h, der mit dem Phagen 4 am stärksten reagiert. Um ihn als Lysotyp 4 zu bezeichnen, fehlen jedoch Lysisreaktionen mit dem Phagen III und dem Phagen XIII. Anderseits gibt der Stamm mit dem Phagen 7 eine Reaktion, die nach dem Schema nicht erwünscht ist.
Legt man hingegen das Budapester Lysespektrum zu Grunde, so fehlt zur eindeutigen Klassifizierung als Lysotyp 4 die Reaktion mit dem Phagen I, X und XIII, während die Reaktion mit dem Phagen 7 keine Abweichung darstellt.
Der Stamm Va 763/7 wurde von den Phagen III und IX gleichstark gelöst.
Der Stamm 18/21/1 kann ebenfalls nicht typisiert werden, denn er gibt zwar eine starke Lysis mit dem Phagen III, jedoch macht das Auftreten einer Lysisreaktion mit dem Phagen VII und XV eine eindeutige Zuordnung zum Lysotyp III unmöglich. Faßt man ihn als Lysotyp VII auf, dürfte er nur mit dem Phagen VII reagieren.
Ähnliche Fragestellungen ergeben sich bei den Stämmen Va 792/15, Sch 10/4d/1, Va 791/1, 18/3b/1, K1A 5054, Ge 1/9, Va 852/1 und K 2a.
Betrachtet man das Lyseverhalten der Stämme 17/1c und 18/1i/1, die beide aus dem Abwasser stammen, so sind sie identisch. Biochemisch konnte kein Unterschied festgestellt werden, jedoch zeigte der Stamm 17/1c im Gegensatz zum Stamm 18/1i/1 kaum Schleimbildung.
Die Lysisbilder der Stämme Ge 7/5 und Ge 3/5 sind ebenfalls identisch. Beide Stämme wurden aus dem Abwasser in zeitlicher und örtlicher Übereinstimmung isoliert. Biochemisch zeigte der Stamm Ge 3/5 im Gegensatz zum Stamm Ge 7/5 ein irreguläres Ureaseverhalten (eine nicht eindeutig positive und nicht eindeutig negative Reaktion).
Der Stamm 18/3k/1 zeigte im Gegensatz zum Stamm Sch 11/3e eine negative Methylrotreaktion, hingegen der Stamm Sch 11/3e ein irreguläres Ureaseverhalten. Das Lysebild ließ hin-

gegen keinen Unterschied erkennen.
Die Stämme Ge 1/4 und Ge 1/5 zeigten im Urease- und Methylrotverhalten biochemische Differenzen. Aufgrund der Lysebilder sind sie als identisch zu betrachten.
Diese Beobachtungen lassen verschiedene Schlußfolgerungen zu: Einmal scheint es möglich, daß ähnlich wie bei der Lysotypie von S.typhi und S.paratyphi B verschiedene Biotypen innerhalb eines Lysotyps vorkommen, anderseits daß gewisse biochemische Reaktionen variabel, d.h. inkonstant sind.

4. Verbesserung der Lysotypieergebnisse durch Erweiterung des Phagensatzes

Der relativ hohe Prozentsatz an nicht eindeutig reagierenden Stämmen (im Sinne der Zuordnung zu einem Lysotyp) legt es nahe, den Testphagensatz zu erweitern. Könnte man z.B. mit Hilfe der Stämme K361, Ge 2/2 und Ge 10/9 spezifische Phagen isolieren (z.B. die hypothetischen Phagen x, y, z), so wären zumindest diese Stämme eindeutig einem Lysotyp zuzuordnen, wenn man folgende Reaktionen voraussetzt:

Teststamm	Typisierphagen																						
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	4	7	35	x	y	z
	+++			-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++		-			-		-	-
					-	-		-	-	-	-	-	-	-			-	-	-			
				++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-		

H.Milch(persönliche Mitteilung) hat uns von 8 neu gefundenen Lysotypen berichtet, die aber in dieser Arbeit noch keine Berücksichtigung finden konnten.

5. Die Anwendbarkeit der Klebsiella-Lysotypie

Typisierschemata sind für epidemiologische Zwecke besser verwertbar, wenn die Zahl nicht typisierbarer Stämme klein ist, die Verteilung der Lysotypen möglichst gleichmäßig und breit ist und einzelne Typen nicht sehr häufig und andere selten oder gar nicht vorkommen. Unter diesen Gesichtspunkten ist die Anwendbarkeit der von uns erprobten Klebsiella-Lysotypie zunächst von beschränktem Wert. Immerhin waren rund 50% der von uns isolierten Klebsiella-Stämme typisierbar. Bei örtlich gehäuftem Auftreten, beispielsweise bei Erkrankungen des Respirationstraktes durch Klebsiellen, bei Harnwegsinfektionen im Krankenhaus (Hospitalismus) wird die hier erprobte Klebsiella-Lysotypie für die Aufdeckung oder die Ausschließung von Zusammenhängen eine wertvolle Hilfe darstellen.

Eine weitere Nutzanwendung der Klebsiella-Phagen liegt darin, in Zweifelsfäller, d.h. bei Stämmen die nicht eindeutig als Klebsiella zu identifizieren sind, wegen der ausreichend hohen Spezifität eine Gattungsbestimmung zu ermöglichen.

Bendig(3) differenzierte typische und atypische Klebsiella-Stämme, wobei er zu den atypischen diejenigen zählte, die eine laktosenegative, methylrotpositive, ureasenegative und eine malonatpositive Reaktion ergaben.

Hormaeche(21, 22, 23) und Kauffmann(25, 26) nehmen die unbeweglichen Formen der Species Aerobacter aerogenes in die Gattung Klebsiella auf, indem sie feststellen, daß der Terminus "Aerobacter aerogenes" praktisch ein Synonym für Klebsiella pneumoniae darstellt.

Die beweglichen Formen von Aerobacter aerogenes werden entsprechend den Empfehlungen des internationalen Komitees für bakteriotypische Nomenklatur in eine neue Species mit dem Terminus Enterobacter aerogenes et cloacae aufgenommen. Da nun für die Klebsiella-Stämme entsprechende Phagen zur Verfügung stehen, aber auch ein spezifischer Phage für die Enterobacter-Stämme vorhanden ist, läßt sich im positiven Fall einer Reaktion des untersuchten Stammes mit den entsprechenden Phagen eine schnelle Abgrenzung von Klebsiella- gegen Enterobacter-Stämme vornehmen. Wünschenswert wäre es einen Klebsiella-Phagen zu finden, der mit allen Klebsiella-Stämmen reagiert, so wie der Salmonella-Phage O_1, der hochspezifisch den weitaus größten Teil der Gattung Salmonella löst und sich damit als wertvoller Testphage für die Zuordnung zu einer Gattung erwies.

Abschließend sei noch einmal auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die sich dadurch ergeben, daß keine einheitlichen Richtlinien für die Arbeitsmethoden bei der Lysotypie von Klebsiella-Stämmen bestehen. Wenn alle Lysotypiezentren exakt nach dem gleichen Schema arbeiten bzw. eine Zentrale die Phagensuspension verteilt, wie das z.B. bei der Lysotypie von S.typhi und S.paratyphi B der Fall ist, so wäre eine höhere Ausbeute und eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet.

C Zusammenfassung

1. Es wurde über die Technik der Vermehrung der Phagen I bis XV, 4, 7, 35 und E_{14} sowie der Phagen 2, 4, 6, 42, 106, 165, 171, 181, 328, 832, 937, 765/1 sowie über die Durchführung der Klebsiella-Lysotypie berichtet.

2. Die Herkunft und die Methoden der Isolierung von Klebsiella-Stämmen aus Berliner städtischen Abwässern und aus menschlichen Ausscheidungen wurde beschrieben.

3. Es wurden 423 Klebsiella-Stämme mit 18 Testphagen typisiert. 71,1% der Stämme reagierten mit mindestens einem Testphagen, davon konnten 49,9% einem bestimmten Lysotyp zugeordnet werden. Die aus Abwässern isolierten Stämme zeigten in Bezug auf den Lysotypen keine auffälligen Unterschiede.

Von 301 Klebsiella-Stämmen zeigten 90 (=21,3%) eine Lysisreaktion, die eine eindeutige Zuordnung zu einem Lysotyp nicht erlaubte. Von diesen 90 Stämmen stammten 72 (=80%) aus dem Abwasser, 18(= 20%) vom Menschen.

Es zeigte sich weiter, daß die indolnegativen Klebsiella-Stämme überwogen, wenn auch die indolpositiven Stämme einen merklichen Anteil untersuchter Stämme ausmachten. Die indolnegativen Stämme gehörten besonders dem Lysotyp III an.

Auch die Klebsiella-Stämme mit adonitnegativer Reaktion wurden in ihrer Beziehung zum Lysotyp untersucht, aber keine Unterschiede zwischen adonitpositiven und adonitnegativen Stämmen gefunden.

Von 78 sogenannten Enterobacter-Stämmen wurden 16(= 20,5%) von dem an den Stamm Enterobacter cloacae adaptierten Phagen E_{14} lysiert. H. Milch beobachtete in 40,4% der Fälle eine positive Reaktion(33).

4. Die Lysespektren der in Berlin und der in Budapest gewonnenen Phagensuspensionen wurden untereinander verglichen und die Abweichungen diskutiert. Zur Erreichung einer besseren Übereinstimmung wurde eine erneute Phagenpropagation nach Budapester Angaben vorgenommen, jedoch blieben im Lysisspektrum weiterhin Unterschiede sichtbar.

5. Der Vergleich unserer Lysotypierergebnisse mit denen von H. Milch zeigte Unterschiede in der Häufigkeit der Lysotypen in Budapest und Berlin. Neben der örtlichen unterschiedlichen Häufigkeit der einzelnen Lysotypen müssen auch in der Vermehrungstechnik Gründe für die Differenzen gesucht werden.

Es wurden Beispiele der Stämme besprochen, die nicht eindeutig einem Lysotyp zuzuordnen waren und daraus die Notwendigkeit nach Erweiterung des Testphagensatzes abgeleitet.

6. Abschließend wurde auf die Anwendbarkeit der Klebsiella-Phagen zur schnellen Gattungsdiagnose von Klebsiella-Stämmen bei Hospitalinfektionen und örtlichen Epidemien und zur Abgrenzung gegen Enterobacter-Stämme hingewiesen.

Literaturverzeichnis

1. Anderson, E.S. und R.E.O. Williams
Bacteriophage Typing of Enteric Pathogens and Staphylococci and its Use in Epidemiology
J. Clin. Path. 9, 94 (1956)

2. Bail, O. zitiert nach Brandis, H. (Nr. 7)
Bakteriophage Wirkungen gegen Flexner- und Colibakterien
Wien. klin. Wschr. 447 (1921)

3. Bendig, J., H. Haenel und I. Braun
Die fäkale Mikroökologie bei Schulkindern
II. Mitteilung: Systematische Zusammensetzung der sogenannten Klebsiella-Enterobacter-Gruppe und ihr Vorkommen
Zbl. Bakt. I Orig. 209, 90 (1968)

4. Boyd, J.S.K.
Die symbiotischen Bakteriophagen von Salmonella typhi-murium
J. Path. Bact. 62, 501 (1950)

5. Bradley, W.H.
An epidemiological study of bacterium typhosum type D_4
Brit. med. J. I, 438 (1943)

6. Brandis, H.
Die Lysotypie mit Typhus- und Paratyphus B-Stämmen von Dauerausscheidern
Zbl. Bakt. I Orig. 162, 437 (1955)

7. Brandis, H
Die Anwendung von Phagen in der bakteriologischen Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Typisierung von Typhus- und Paratyphus B-Bakterien sowie Staphylokokken
Erg. Mikrobiol. Immunforschg. 30, 96 (1957)

8. Brandis, H., A. Morgenroth, B. Schmidt, V. Lenk, U. Polanetzki, I. Böhlck und S. Kessler
Die Verteilung der Lysotypen von S. typhi und S. paratyphi-B in der Bundesrepublik Deutschland in den Jahren 1958-1961
Arch. Hyg. 150, 140 (1966)

9. Brandis, H., U. Polanetzki, F. Würsching, B. Schmidt, V. Lenk und I. Böhlck
Bericht über die Ergebnisse der Lysotypie von S. typhi und S. paratyphi-B in den Jahren 1962 bis 1965
Arch. Hyg. 151, 291 (1967)

10. Craigie, J. und A. Felix
Typing of typhoid bacilli with Vi-bacteriophage
Suggestions for its standardisation
Lancet 1947 I, 823

11. Craigie, J. und Ch. H. Yen
Demonstration of types of bacillus typhosus by means of preparations of type II Vi phage
Principles and Technic
Canad. Publ. Health J. 29, 448 (1938)

12. Edlinger, E., P. Nicolle und Y. Hamon
Die Methoden der Lysotypie von S. typhi, S. paratyphi B und die Ergebnisse mit Stämmen aus Österreich
Arch. Hyg. 138, 157(1954)

13. Eörsi, M., L. Jablonszky und H. Milch
Über die Bedeutung der Phagen bei enteralen Infektionen im Säuglingsalter (ungarisch)
Népegészségügy 8, 220(1953)

14. Freytag, Bl. und E. Plochmann
Erfahrungen mit der Lysotypie bei der Typhusdiagnose
Zschr. Hyg. 142, 188(1955)

15. Gärtner, H.
Beitrag zur regionären Verteilung der Paratyphi B-Phagentypen
Zschr. Hyg. 142, 432(1956)

16. Goslings, W. R. O.
Untersuchungen über das Scleroma respiratorium
III. Mitteilung: Die Variabilität bei Kapselbakterien, besonders bei Sklerombakterien
Zbl. Bakt. I Orig. 134, 195 (1935)

17. Hadley, P.
The action of the lytic principle on capsulated bacteria
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 23, 109(1925)

18. Hammarström, E.
Bakteriophage classification of Shigella sonnei
Lancet 1947, II, 102

19. Hammarström, E. zitiert nach Przondo-Hessek (Nr. 40)
Phage-Typing of Shigella sonnei
Stockholm 1949

20. Hoff, J. C. und Ch. H. Drake
Simplified method for isolation and purification of bacteriophages
J. Bact. 83, 924(1962)

21. Hormaeche, E. und P. R. Edwards
A proposed genus Enterobacter
Int. Bull. Bact. Nomencl. 10, 71(1960)

22. Hormaeche, E. und P. R. Edwards
Proposal for the rejection of the generic name Cloaca Castellani and Chalmers, and proposal of Enterobacter as a generic name with designation of type species and its type culture
Int. Bull. Bact. Nomencl. 10, 75(1960)

23. Hormaeche, E. und P. R. Edwards
The Klebsiella group
Int. Bull. Bact. Nomencl. 8, 39(1958)

24. Humphries, J.C.
Enzymic activity of bacteriophage-culture lysates
J.Bact.56,683(1948)

25. Kauffmann, F.
Enterobacteriaceae
Einar Munksgaard, Copenhagen 1954

26. Kauffmann, F.
The Bacteriology of Enterobacteriaceae
Einar Munksgaard, Copenhagen 1966

27. Krasilnikov, A.P. und N.A. Izraitel
Phage typing of Scleroma bacillus and its epidemiological significance(russisch)
J.Microbiol.Epid.Immunol.7,32(1966)

28. Kurylowicz, W.
Die Stellung des Sklerombakteriums in der Gruppe der Kapselbakterien
Zschr.Immunit.forsch.93,457(1938)

29. Lilleengen, K.
Typing of Salmonella typhi-murium by means of bacteriophage; experimental bacteriologic study for purpose of devising phage-typing method to be used as aid in epidemiologic and epizootologic investigations in outbreaks of S.typhi-murium infection
Acta path.microbiol.Scand.Suppl.(1948),77

30. Marcuse, K.
Über die Phagendiagnostik innerhalb der Paratyphusgruppe
Zbl.Bakt.I Orig.131,49(1934)

31. Marcuse, K.
Über die Typhusdiagnostik mit spezifischen Bakteriophagen (nach Sonnenschein)
Zbl.Bakt.I Orig.131,206(1934)

32. Mařejovská, V. und K.Raška
Die Anwendung der Lysotypie in der Epidemiologie und für die Prophylaxe von Staphylokokkeninfektionen in Krankenhäusern
4.Colloquium über Fragen der Lysotypie
Wernigerode(Harz) 8.-11.Juni 1960

33. Milch, H. und Z.Deák
Studies on Klebsiella infections by phage detection and phage typing
Acta Microbiol.Acad.Sci.Hung.11,251(1964)

34. Moser, L.
Erfahrungen mit neuen diagnostischen Methoden zum Nachweis von Keimen aus der Salmonella- und Shigellagruppe
Arch.Hyg.137,197(1953)

35. Mucha, V.
Bakteriophagie und Agglutinationsprobe bei Sklerom(slowakisch)
Zbl.Bakt.I Ref.124,268(1936)

36. Nicolle, P., L. Le Minor, S. Le Minor und R. Buttiaux
Lysotypie von Escherichia coli, isoliert aus dyspeptischen Stühlen von Neugeborenen
Zbl. Bakt. I Orig. 168, 512(1957)

37. Ortel, S.
Lysotypie von Staphylococcus aureus zur Klärung epidemiologischer Zusammenhänge bei durch Fischkonserven hervorgerufenen Staphylokokken-Nahrungsmittelvergiftungen
Zschr. Hyg. 144, 407(1958)

38. Park, B. H.
An enzyme produced by a phage-host cell system
I. The properties of a Klebsiella phage
Virology 2, 711(1956)

39. Präsek, E. und M. Prica
Agglutinationsreaktion bei Rhinosklerom
Bakteriophagenstudien II
Zbl. Bakt. I Orig. 108, 376(1928)

40. Przondo-Hessek, A.
Bakteriophages of Klebsiella bacilli
Isolation, properties and use in typing
Arch. Immunol. et Ther. Exper. 14, 413(1966)

41. Przondo-Hessek, A.
Morphology and thermal sensitivity of Klebsiella bacteriophages of the collection of Przondo-Hessek
Arch. Immunol. et Ther. Exper. 15, 547(1967)

42. Przondo-Hessek, A.
Typing of Klebsiella bacilli by means of Klebsiella bacteriophages from the collection of Przondo-Hessek
Arch. Immunol. et Ther. Exper. 15, 563(1967)

43. Rakieten, M. L., A. H. Eggerth und T. L. Rakieten
Studies with bacteriophages active against mucoid strains of bacteria
J. Bact. 40, 529(1940)

44. Rische, H. und J. Sedlák
Enterobacteriaceaeinfektionen
Edition Leipzig 1963

45. Rohne, K.
Die Anwendung der Lysotypie von Salmonella typhi-murium nach Felix und Callow anläßlich einer Lebensmittelvergiftung
2. Colloquium über Fragen der Lysotypie
Wernigerode(Harz) 7.-10. Oktober 1956

46. Schmidt, A.
Gewinnung spezifisch eingestellter Diagnostikphagen durch Umzüchtung
Zbl. Bakt. I Orig. 123, 202(1932)

47. Schmidt, A.
Über die Verwendung der Bakteriophagen in der Typhus- und Paratyphusdiagnose
Zbl. Bakt. I Orig. 123, 207(1932)

48. Schmidt, B. und V. Lenk
Ergebnisse der Lysotypie von Salmonella paratyphi-B in Berlin
Zschr. Immunit. forsch. exper. Therap. 116, 15(1959)

49. Schneeweiß, U.
Spezielle Mikrobiologie
Walter de Gruyter & Co
Berlin 1968

50. Sonnenschein, C.
Die Verwendbarkeit der Bakteriophagie für die bakteriologische Diagnose
Münch. med. Wschr. 34, 1443(1925)

51. Twort, F. W. zitiert nach Schneeweiß, U. (Nr. 49)
Lancet 1915, II, 1241

52. Wüstenberg, J. und O. Korell
Die Vi Phagentypen in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie des Typhus und Paratyphus B
Arch. Hyg. 139, 85(1955)

Lebenslauf

In Berlin-Lankwitz wurde ich am 21.7.1942 als Sohn des Diplom-Kaufmanns Wilhelm Böhme und der Schneiderin Hildegard Geretzki geboren.
Am 1.9.1948 erfolgte meine Einschulung. Den Schulbesuch beendete ich am 23.2.1962 mit dem Abitur, um am 4.5.1962 mit dem Studium der Volkswirtschaft an der Freien Universität in Berlin zu beginnen.
Am 4.4.1963 wechselte ich das Studienfach an dieser Universität und begann Humanmedizin zu studieren.
Dieses Studium beendete ich an der Freien Universität in Berlin am 14.8.1970 mit der ärztlichen Prüfung.

Seit dem 1.10.1970 bin ich als Medizinalassistent am städtischen Urbankrankenhaus tätig.